



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Facultat de Veterinària

Departament de Ciència Animal i dels Aliments

Trabajo presentado para la obtención de los 15 créditos del Módulo Trabajo Fin de
Máster del **Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal**

“Caracterización de emulsiones deshidratadas a base de ingredientes de la membrana del glóbulo graso”

Denise Pamela Sánchez Oviedo

Directoras:

Dra. Victoria Ferragut Pérez
Dra. Antonia María Cano Sarabia



Bellaterra (Barcelona), 13 de septiembre de 2018

*“Nada en la vida debe temerse, solo debe ser entendida.
Ahora es el momento de comprender más, para que podamos temer menos.”*

Marie Curie

(Científica polaca nacionalizada francesa)

Dedicado a mis padres Gladys Oviedo y José Sánchez, por su incansable trabajo para proveerme una buena educación e incentivarme a llegar con orgullo a mis metas. A mis hermanos David y Daniela por creer en mí y en mi capacidad de llegar lejos y a Juan Pablo Leite por desafiarme a trazar y a cumplir nuevos sueños.

AGRADECIMIENTOS

La culminación del presente trabajo representa el término de un proceso personal a nivel académico. Doy gracias a Dios quien me bendice infinitamente y me da fortalezas para alcanzar mis metas. Al programa de becas Carlos Antonio López (BECAL) del gobierno paraguayo quien me dio la oportunidad de escalar académicamente a fin de proveerme de herramientas para servir al Paraguay.

Durante el tiempo de realización de este trabajo experimental he recibido la ayuda y el apoyo invaluable de muchas personas a quienes quiero agradecer: Advelí Durand, Idoia Codina, Joan Miquel Quevedo, Toni Trujillo, y en especial a mis profesores y directores de trabajo fin de Máster, Victoria Ferragut y Antonia Cano Sarabia, por el interés, consejos, guía y confianza, por entregarme las herramientas para mi desarrollo profesional y personal, muchas gracias.

Victoria Ferragut Pérez, Profesora Titular del Departament de Ciència Animal i dels Aliments, de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona, y **Antonia María Cano Sarabia**, Senior Researcher, Departamento de Nanoquímica supramolecular y materiales, Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia.

INFORMAN:

Que el trabajo de investigación titulado: “Caracterización de emulsiones deshidratadas a base de ingredientes de la membrana del glóbulo graso” ha sido realizado bajo su supervisión dentro del módulo Trabajo Fin de Máster del Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Y para que así conste firman el presente documento en:

Bellaterra, 13 de septiembre de 2018

Dra. Victoria Ferragut Pérez

Dra. Antonia María Cano Sarabia

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
AG	Ácidos grasos
ANOVA	Análisis de varianza
BaCl ₂	Cloruro de bario
BS	Retrodispersión de luz
°C	Grados celsius
C-18:2	Ácido linoleico
C-18:3	Ácido linolénico
d	Día
D _{3,2}	Volumen medio de las partículas
D _{4,3}	Superficie media de las partículas
DHA	Ácido docosahexaenoico
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FeSO ₄	Sulfato ferroso
h	Hora
HV	Haz de aceleración de voltaje
kV	kilovoltio
LD	Dispersión láser
MD	Maltodextrina
MFGM	Membrana del glóbulo graso
min	Minuto
mm	Milímetro

ml	Mililitro
MZ	Mazada
nm	nanómetro
NaCas	Caseinato sódico
p	Peso
Pa	Pascal
PUFA	Ácidos grasos polinsaturados
PV	Valor de hidroperóxido
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
SEM	Microscopía del barrido electrónico
SMP	Leche en polvo desnatada
SD	Desviación estándar
t	Tiempo
T	Transmitida
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TSI	Índice de estabilidad del Turbiscan
WPI	Proteína del suero aislada
μm	Micrómetro
ω-3	Omega 3
ω-6	Omega 6

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
2.1. <i>Preparación de las emulsiones</i>	6
2.2. <i>Estabilidad de las emulsiones líquidas</i>	6
2.2.1. <i>Análisis del tamaño de partícula</i>	6
2.2.2. <i>Estructura microscópica de las emulsiones</i>	7
2.2.3. <i>Estabilidad coloidal de las emulsiones</i>	7
2.2.4. <i>Comportamiento reológico de las emulsiones</i>	8
2.3. <i>Secado por atomización</i>	8
2.3.1. <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i>	9
2.3.2. <i>Análisis de humedad de las emulsiones deshidratadas</i>	9
2.4. <i>Determinación de la oxidación lipídica de las emulsiones líquidas y deshidratadas</i>	9
2.2.6. <i>Redispersión de los sólidos</i>	10
2.5. <i>Análisis estadístico</i>	10
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
3.1. <i>Evaluación de las emulsiones líquidas</i>	12
3.1.2. <i>Determinación de tamaño de partícula</i>	12
3.1.3. <i>Evaluación de la estabilidad de las emulsiones</i>	15
3.1.4. <i>Comportamiento reológico de las emulsiones</i>	17
3.5. <i>Evaluación de características del secado por atomización</i>	18
3.5.1. <i>Caracterización de los componentes de la pared de encapsulamiento y su tamaño</i>	18
3.5.2. <i>Morfología de las cápsulas de la emulsión deshidratada</i>	18
3.5.3. <i>Determinación de Humedad de las emulsiones deshidratadas</i>	20
3.6. <i>Evaluación de la oxidación de los lípidos de las emulsiones líquidas y deshidratadas</i>	21
3.7. <i>Evaluación general de la redispersión de las emulsiones deshidratadas</i>	24
4. CONCLUSIONES.....	25
5. BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

Se ha estudiado la estabilidad de emulsiones “aceite-en-agua” y el efecto de su secado por atomización, conteniendo 2 y 3% (p/p) de mazada como material emulgente, 10 y 15% (p/p) de aceites vegetales (chía y girasol, 1:1) y 30% (p/p) de maltodextrina como material encapsulante. Se determinó la estabilidad, el tamaño de partícula, la reología y la oxidación de las emulsiones líquidas. Se procedió al secado de estas emulsiones por la técnica de pulverizado-secado con análisis posterior de la morfología y tamaño de los productos en polvo, así como el efecto del proceso de secado sobre la oxidación lipídica. El tamaño de partícula, en consonancia con observaciones por microscopía óptica revelaron la presencia de agregados y la heterogeneidad en el tamaño de partícula de las muestras, lo que se tradujo a una inestabilidad de las emulsiones al día 1. Todas las emulsiones han tenido un correcto secado obteniendo morfologías de cápsulas esféricas y de superficie lisa con un contenido de humedad que varían del 4 al 5%. La formación de hidroperóxidos estuvo fuertemente influenciada al contenido de aceite. Así mismo, se observó un ligero incremento de la oxidación por efecto del proceso de secado por atomización. La redispersión en agua de las emulsiones deshidratadas demostró que las concentraciones utilizadas de mazada no produjeron una total encapsulación del aceite.

Palabras claves: emulsiones “aceite-en-agua” , aceite rico en omega 3, membrana del glóbulo graso, secado por atomización.

ABSTRACT

The stability of “oil-in-water” emulsions and their dried by Spray-Drying technique have been studied, containing 2 and 3% (w/w) of buttermilk as emulsifying material, 10 and 15% (w/w) of vegetable oils (chia and sunflower, 1:1) and 30% (w/w) of maltodextrin as encapsulating material. The stability, the particle size, the rheology and the oxidation of the liquid emulsions were determined. It proceeded to dry the emulsions with subsequent analysis of the morphology and size of the powdered products, as well as the effect of the drying process on lipid oxidation. The particle size, in agreement with observations by optical microscopy revealed the presence of aggregates and the heterogeneity in the particle size of the samples, which translated into an instability of the emulsions at day 1. All the emulsions have had a correct drying obtaining morphologies of spherical and smooth surface capsules with a moisture content ranging from 4 to 5%. The formation of hydroperoxides was strongly influenced to the oil content. Likewise, a slight increase in oxidation was observed due to spray drying process. The redispersion in water of the dehydrate emulsions showed that the concentrations used of buttermilk did not produce a total encapsulation of the oil.

Keywords: o/w emulsions, oil enriched with omega 3, buttermilk, fat globule membrane, spray drying,

1. INTRODUCCIÓN

Existe un creciente interés público en alimentos funcionales que incluye la ingesta diaria de micronutrientes necesarios, como vitaminas, ácidos grasos esenciales y antioxidantes, debido a su papel en el mantenimiento de la salud y en la prevención de enfermedades (Gao et al., 2014). Los ácidos, linolénico (C18:3, ω -3) y linoleico (C18:2, ω -6) son ácidos grasos (AG) esenciales, ya que el cuerpo humano no posee la enzima responsable de producirlos (Guiotto, 2014; Porras et al., 2014) y, por tanto, deben ser incluidos en la dieta. El ácido linolénico es precursor del ácido eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA). A su vez, el ácido linoleico es precursor del ácido araquidónico (AA). El AA, el EPA y el DHA son importantes componentes estructurales de los fosfolípidos de las membranas y son el sustrato para la formación de eicosanoides. Los ácidos EPA y DHA pueden ser aportados por la dieta (preformados), encontrándose en pescados, mariscos y algas o a partir de su precursor de origen vegetal. Actualmente los cambios en los patrones de alimentación han provocado un mayor consumo de aceites vegetales ricos en ácido linoleico (ω -6), por lo que la relación ω -6/ ω -3 es del orden de 15:1 en muchos países, cuando la relación ideal es 5:1 o máximo 10:1 (FAO, 1994). La utilización de semillas con aceites de alto contenido de ácido linolénico o del aceite mismo en alimentación es una herramienta interesante para aumentar el aporte de ácidos grasos ω -3 a la dieta. Las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) representan la fuente vegetal con la mayor concentración conocida de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) ω -3 (Ayerza, 1995), su aceite contiene ácido α -linolénico en concentraciones de hasta 67,8%, los cuales son más altos que los aceites de linaza, canola y soja (Gundstone y Padley, 1997). Por otra parte, el aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.) es fuente principal de ω -6 y también posee α -tocoferoles, γ -tocoferoles y fitoesteroles, obteniendo así el equilibrio correcto entre PUFA y antioxidantes que protegen las membranas lipoproteicas del estrés oxidativo (Sánchez et al., 2015). El consumo de PUFA confiere protección contra enfermedades cardíacas, inflamatorias, renales y asmáticas, mejora los trastornos del estado de ánimo y funciones cerebrales (O'Dwyer et al., 2013).

Una manera de incrementar la ingesta de AG ω -3 y ω -6 es incluyéndolos en forma de emulsiones en alimentos de naturaleza coloidal, tales como la leche, quesos, yogures, entre otros. El comportamiento de las emulsiones está determinado por las dos fases que la componen, la oleosa y la acuosa, así como por la composición de la interfase que las separa. Esta última puede estar compuesta por proteínas o emulsionantes de bajo peso

molecular, tales como mono y diglicéridos, fosfolípidos, o mezclas de estas moléculas con actividad superficial (Leal-Calderon et al., 2007).

El suero de mantequilla, comúnmente denominada mazada, es la fase líquida liberada durante el batido de la nata en el proceso de fabricación de mantequilla, en la que se produce la inversión de la emulsión original o/w con la consiguiente separación de la fase acuosa. La mazada contiene los componentes solubles en agua de la nata, tales como lactosa, minerales y otros parcialmente solubles arrastrados en el proceso de batido, como proteínas (del suero y caseínas) y restos de la membrana del glóbulo graso de la leche (MFGM). La MFGM está compuesta principalmente por fosfolípidos, proteínas, y minerales (Walstra et al., 2006). Los fosfolípidos (fosfatidilcolina, esfingomielina y fosfatidiletalona), constituyen el 30% del peso total de la fracción lipídica de la MFGM (Kanno, 1990). Los fosfolípidos, así como las glicoproteínas de la MFGM están relacionados con varias funciones celulares, como el crecimiento, sistemas de transporte molecular, procesos de memoria, respuestas de estrés y la mielinización del sistema nervioso central (Astaire et al., 2003). Existe en la bibliografía una serie de estudios que han demostrado sus efectos beneficiosos en la salud humana (Wang et al., 2001; Fong et al., 2007; Snow et al., 2011), así como estudios sobre la adición de MFGM a las dietas de lactantes y niños donde se ha demostrado resultados prometedores con respecto al neurodesarrollo y a la defensa contra infecciones (Hernell et al., 2016; Gurnida et al., 2012; Timby et al., 2014). Los fosfolípidos y las proteínas de MFGM pueden usarse como material emulsionante para vehicular los aceites ricos en AG ω -3 y ω -6 en forma de emulsiones “aceite-en-agua”, las cuales pueden ser posteriormente incorporadas a matrices alimentarias con doble funcionalidad. Por una parte, pueden facilitar la formación de una capa adsorbida alrededor de las gotas de la emulsión, la cual le confiere cierta estabilidad frente a la floculación y la coalescencia (Robins y Wilde, 2003) y, por otra parte, pueden aportar la biofuncionalidad al alimento al que se incorporen las emulsiones.

El secado por atomización (más conocido por Spray-Drying) es una buena alternativa para la conversión de emulsiones líquidas en emulsiones deshidratadas, siendo esta operación relativamente sencilla y de bajo costo. El proceso de secado por atomización se realiza típicamente con un alimento líquido, pudiendo ser una emulsión “aceite-en-agua”, dando como resultado la formación de micropartículas de polvo con baja actividad de agua, lo que simplifica el transporte, la manipulación y el almacenamiento, y garantiza la calidad microbiológica (Gouin, 2004). Asimismo, este proceso es útil para encapsular

materiales sensibles al calor debido a sus cortos tiempos de secado (Desai y Park, 2005). Uno de los principales problemas asociados con los aceites ricos en PUFA es su alta susceptibilidad al deterioro oxidativo y la consecuente producción de sabor indeseable. Por lo tanto, existe la necesidad de proteger estos aceites para que sean más estables durante la manipulación, el procesamiento y el almacenamiento (Augustin et al., 2006).

Para microencapsular una emulsión el producto de partida ha de ser mínimamente estable y poseer un alto contenido de sólidos, ya que así se disminuye la cantidad de agua a evaporar convirtiéndose en un aspecto económicamente importante. El contenido en sólidos procede en gran medida del material encapsulante que debe ser soluble en agua para favorecer la redispersión de la emulsión.

Las maltodextrinas son almidones parcialmente hidrolizados comúnmente utilizado como pared de cobertura en la microencapsulación de ingredientes alimentarios (Gharsallaoui et al., 2007), ofrece ventajas tales como un aroma y sabor neutros, de bajo costo, baja viscosidad a altas concentraciones de sólidos y buena protección contra la oxidación. Sin embargo, el mayor problema de este material encapsulante es su baja capacidad emulsificante. Ante esto, es deseable usar maltodextrina en combinación con otros biopolímeros tensioactivos, tales como proteínas (Hogan et al., 2003; Bae y Lee, 2008). En este caso la utilización de los componentes de la mazada aporta la función emulgente que, junto con la maltodextrina, se obtiene una microencapsulación efectiva mediante secado por atomización. Las propiedades físicas del polvo obtenido se ven influenciadas por la naturaleza de la emulsión (contenido de sólidos, estabilidad y viscosidad), tipo de atomizador, velocidad de operación y presión, y temperaturas de entrada y salida, entre otros (Reineccius, 2004; Yousefi et al., 2011; De Barros et al., 2013).

El presente trabajo tiene como objetivo principal la caracterización de emulsiones funcionales ricas en ácidos grasos ω -3/ ω -6 y mazada rica en MFGM, y, por último, determinar su comportamiento después de su secado por atomización.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de las emulsiones

Se prepararon dispersiones de mazada (MZ) al 30% (p/p) (CAPSA FOOD S.A., Asturias, España) y maltodextrina (MD) al 60% (p/p) (Glucidex 19 D, Roquette, Francia) disolviéndose en agua destilada, dejándolas hidratar en reposo a 4 °C durante toda la noche. A continuación, se procedió a preparar las pre-emulsiones “aceite-en-agua” fijando el contenido de MD al 30% (p/p) y variando los porcentajes de MZ al 2 y 3% (p/p). El peso final de mazada a añadir se calculó a partir de la dispersión concentrada previamente obtenida. El aceite utilizado fue una mezcla de aceite de chía (Grupo nutracéutico Chiasa S.L., Valencia, España) y girasol (Aceites La Masia, Sevilla, España) en una proporción 1:1 (p/p), variando el contenido total de aceite al 10 y 15% (p/p). Los componentes se mezclaron en un equipo Thermomix TM 21 (Vorwerk España M.S.L., S.C., Madrid, España), operado a 600 rpm a 50 °C durante 10 min. Las pre-emulsiones obtenidas se envasaron en botellas de vidrio y a continuación se homogeneizaron en un homogeneizador de dos etapas Homolab 2.20 (FBF Italia, S.R.L., Parma, Italia) a 300 bares en la primera etapa y 30 bares en la segunda. Posteriormente las emulsiones fueron pasteurizadas a 63 °C durante 30 min en botellas de vidrio y rápidamente enfriadas para frenar el sobrecalementamiento.

Mediante el mismo procedimiento, a título comparativo, se prepararon emulsiones sustituyendo la MZ por leche en polvo desnatada (SMP) (Chr. Hansen Holding A/S, Hoersholm, Dinamarca) al 2% (p/p), utilizando 10 y 15 % (p/p) de aceite y 30% (p/p) de MD.

Aproximadamente 200 ml de emulsión se prepararon para cada variación para fines de secado por atomización.

2.2. Estabilidad de las emulsiones líquidas

2.2.1. Análisis del tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partículas (gotas individuales o agregados) de la emulsión recién hecha a temperatura ambiente, se determinó por la técnica de dispersión láser (LD) utilizando el equipo Mastersizer 2000E (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) como describen Jafari et al. (2007) y Ye (2011). El índice de refracción utilizado

para la fase dispersa fue 1,460 y el correspondiente al agua destilada fue 1,330. La distribución de tamaño de partícula se caracterizó mediante los diámetros $D_{4,3}$ (en base al volumen medio de las partículas) y el $D_{3,2}$ (en base a la superficie media de las partículas). Antes de cada medición, las muestras fueron homogenizadas manualmente por agitación durante 30 s. Las medidas se realizaron por duplicado, con tres producciones independientes.

2.2.2. Estructura microscópica de las emulsiones

Se observó la microestructura de las emulsiones a través de microscopía óptica en un microscopio invertido Axio Observer LSM 880 con Airyscan (Carl Zeiss Microscopy, Weimar, Alemania) con aumento 50x. Las muestras se agitaron suavemente y se tomaron aproximadamente 0,5 ml de muestra colocándolas en un portaobjetos con cubreobjetos. Las muestras fueron colocadas de forma invertida en la base del microscopio para su posterior observación y obtención de las imágenes.

2.2.3. Estabilidad coloidal de las emulsiones

La estabilidad coloidal de las emulsiones fue evaluada a través del analizador óptico Turbiscan MA 2000 (Formulaction, Toulouse, Francia) como describe Codina et al. (2017). El equipo Turbiscan® funciona midiendo la luz retrodispersada (BS) y transmitida (T) en la muestra, cuyos valores están relacionados con el diámetro promedio de las partículas y su fracción de volumen. La variación de la retrodispersión delta (ΔBS) y las señales de transmisión se calculan como la diferencia entre BS o T en un momento inicial ($t=0$), y su evolución a diferentes tiempos a partir de la curva a $t=0$. En este estudio la evolución de la estabilidad se determinó el d_0 , al cabo de 24 h (d_1) y el avance de desestabilización en los días 6 (d_6) y 15 (d_{15}). De esta forma, este equipo es útil para la identificación rápida y sensible de los mecanismos de desestabilización (cremado, sedimentación, floculación o coalescencia). Se añadió azida sódica al 0,02% a las muestras a fin de evitar el crecimiento microbiano puesto que las muestras fueron almacenadas y medidas a 20 °C. Las muestras se colocaron en viales de vidrio de borosilicato (27,5 mm x 70 mm) hasta 40 mm de altura. Los resultados se obtuvieron usando el software específico Turbiscan® (Formulaction, Toulouse, Francia) calculándose el Índice de estabilidad de

Turbiscan (TSI), que proporciona información sobre la estabilidad global de la muestra. El coeficiente TSI se obtiene de la siguiente fórmula:

$$TSI = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_{BS})^2}{n-1}}$$

donde n corresponde al número de escaneos, X_i corresponde a la media de retrodispersión para cada minuto de medida y X_{BS} es el valor promedio de X_i .

2.2.4. Comportamiento reológico de las emulsiones

Las mediciones reológicas se realizaron utilizando un reómetro rotacional Haake Rheo Stress 1 (Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Alemania) a deformación controlada, usando un sensor de geometría cono-plato (1°, 60 mm de diámetro) a una temperatura controlada a 20 °C. Las curvas de flujo (σ vs γ) se determinaron a velocidad de cizallamiento creciente y decreciente entre 0,001 s⁻¹ y 200 s⁻¹ durante 2 min. Las curvas de flujo se ajustaron al modelo de Oswald de Waele, $\sigma = K\gamma^n$, donde σ es el esfuerzo cortante (Pa), K es el índice de consistencia (Pa×sⁿ) y n es el índice de comportamiento al flujo e γ es el gradiente de velocidad (s⁻¹).

2.3. Secado por atomización

Para el secado de las emulsiones se utilizó el método de secado por atomización a través del equipo Mini Spray-Dryer B-290 (Buchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza), usando material de vidrio estándar en configuración de corriente paralela y equipado con una boquilla de dos fluidos (tapa de la boquilla de 1,4 mm) (Figura 1).

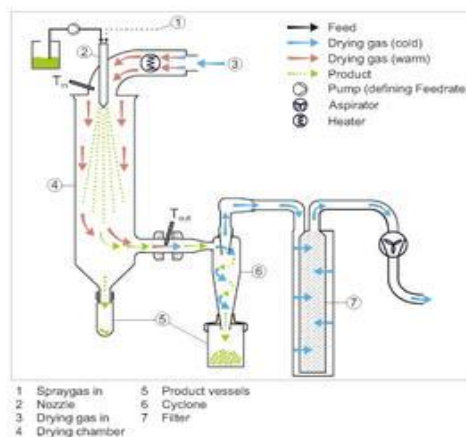


Figura 1. Esquema del Mini Spray-Dryer B-290.

Las muestras fueron previamente atemperadas a 60 °C y mezcladas con un agitador magnético y mecánico con aleación de aluminio IKA™. La velocidad de alimentación de la emulsión varió de 150 a 200 ml/h. Las condiciones de trabajo del secado fueron de 150 °C de temperatura de entrada, 90% de aspiración y 20% de flujo de alimentación. Las muestras deshidratadas resultantes se recogieron en recipientes plásticos y fueron envueltos con papel de aluminio para su conservación ante posibles agentes oxidativos.

2.3.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se observó la morfología de las muestras a través de microscopía electrónica de barrido como describe Lehn et al. (2018). El equipo utilizado fue un microscopio electrónico de barrido Quanta™ 650 FEG (FEI Company, Oregón, Estados Unidos), con haz de aceleración de voltaje (HV) de 7,50 kV y un spot de 3 para la detección de las imágenes. Las muestras fueron previamente preparadas mediante la deposición de una pequeña cantidad de muestra sobre una cinta de carbono y metalizadas con platino en una cámara de vacío Leica EM ACE600 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania). Para la determinación del diámetro medio de partículas se utilizó el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ (National Institutes of Health, Maryland, Estados Unidos).

2.3.2. Análisis de humedad de las emulsiones deshidratadas

Para analizar la humedad de las muestras deshidratadas se utilizó el método de extracto seco determinado por la AOAC (1990). Se colocaron aproximadamente 1 g de cada muestra en las cápsulas con sus correspondientes varillas de vidrio en una estufa a 103 °C durante 8 h. Las muestras fueron enfriadas y pesadas para dar resultado del extracto seco final.

2.4. Determinación de la oxidación lipídica de las emulsiones líquidas y deshidratadas

La formación de hidroperóxidos (PV) de los lípidos se evaluó de acuerdo con el método de Hu et al. (2004). Fueron colectadas 1,5 ml de las emulsiones líquidas. Las muestras fueron almacenadas a -80 °C. Después del almacenamiento de un período de incubación específico, se mezclaron con 1,5 ml de isooctano/2-propanol (3:1, v/v) agitando en vórtex por 30 s. La fase orgánica del solvente de la mezcla fue colectada por centrifugación a

1000 g por 2 min. La fase orgánica del solvente (200 μ l) fue adicionada a 2,8 ml de la mezcla preparada de metanol:1-butanol (2:1, v/v), seguido por la adición de 15 μ l a 3,94 moles tiocianato de amonio y 15 μ l de la solución de hierro ferroso, el cual fue preparado por la mezcla de 0,132 moles de BaCl_2 y 0,144 moles de FeSO_4 . Se llevó a cabo las mediciones de PV a través de espectrofotometría a 510 nm de absorbancia.

Para determinar la formación de oxidación secundaria de los lípidos, se realizó la técnica de evaluación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Fueron colectadas 10 ml de las emulsiones y almacenados a -80°C . El contenido de TBARS se determinó usando un proceso descrito por Sørensen y Jørgensen (1996), con algunas modificaciones. Las emulsiones (3 ml) se mezclaron con 6 ml de ácido tricloroacético (TCA) como reactivo (7,5%, p/v) y se agitaron en el vórtex por 30 s. Las mezclas resultantes se filtraron con una membrana microporosa de 1 μm después de 20 min de la adición de ácido tricloroacético (TCA). Los filtrados (2 ml) se colocaron en tubos de ensayo que contenían reactivo ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,8%, p/v) y se mezclaron mediante agitación por vórtex. Las mezclas resultantes se calentaron en un baño de agua (95°C) durante 10 min, y luego se enfriaron inmediatamente en un baño de hielo para ralentizar la reacción. La absorbancia de los extractos finales se registró a 532 nm. El mismo proceso se realizó para las emulsiones deshidratadas basándose en el contenido de sólidos totales de la emulsión inicial para su redispersión. Los datos se expresan en absorbancia a través de espectrofotometría.

2.2.6. Redispersión de los sólidos

Se realizó la redispersión de los sólidos en una concentración del 5% de emulsión deshidratada en agua. Se utilizó el agitador Multistirrer 15 (VELP Scientifica, Usmate, Italia) a revoluciones de 600 rpm por 20 min. Para evaluar las características coloidales de las emulsiones en redispersión se dejaron en reposo durante toda la noche a temperatura ambiente.

2.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo teniendo en cuenta la media y la desviación estándar con el fin de evaluar la estabilidad fisicoquímica de las emulsiones líquidas y deshidratadas. Se utilizó el análisis de varianza ANOVA. El análisis estadístico se realizó utilizando el software R a un nivel de significación del 95% y se realizó el ajuste de Tukey

($p < 0,05$). Los análisis se realizaron por duplicado a partir de tres producciones independientes de las formulaciones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existe en la literatura pocas referencias bibliográficas acerca de emulsiones deshidratadas elaboradas con MZ, por lo que para establecer las formulaciones de las emulsiones de este trabajo se realizó un estudio previo, el cual consistió en elaborar emulsiones "aceite-en-agua" variando los contenidos de MZ al 1, 2, 3 y 4% (p/p) como material emulgente y MD al 20 y 40% (p/p) como material encapsulante para la encapsulación de 20% (p/p) de aceite, a fin de definir las concentración de MD y MZ que permitieran la obtención de emulsiones deshidratadas en formato polvo mediante la técnica de secado por atomización. Se observó que con el contenido de 20 y 40% de MD no hubo un correcto secado de las emulsiones con relación al contenido de aceite (20%), dejando en evidencia la baja concentración de material encapsulante (MD 20%) para la encapsulación de 20% de aceite. Así mismo se observaron dificultades para el correcto secado de emulsiones con 40% de MD, debido a la alta viscosidad presentada por las muestras y que dificultaron el manejo para el proceso de secado.

Conociendo los factores limitantes para la encapsulación del aceite se decidió elaborar emulsiones con 30% (p/p) de MD, 2 y 3% (p/p) de MZ para encapsular 10 y 15% (p/p) de aceite como formulaciones finales (Tabla 1). Así mismo, se incluyeron en el estudio dos formulaciones sustituyendo la MZ por leche en polvo desnatada (SMP) (2%, p/p) a fin de compararlas entre sí.

MUESTRA	ACEITE (%)	MD (%)	SMP/MZ (%)
SMP2/10	10	30	2
SMP2/15	15		
MZ2/10	10		
MZ2/15	15		
MZ3/10	10		3
MZ3/15	15		

Tabla 1. Datos representados en % (p/p) de contenido de aceite, MD, SMP y MZ.

3.1. Evaluación de las emulsiones líquidas

3.1.2. Determinación de tamaño de partícula

El análisis de tamaño de partícula se realizó en base a las curvas de distribución de tamaño (Figura 2) y a los valores medios de los diámetros $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ (Cortés et al., 2009). Se observó una distribución bimodal en las curvas de distribución para todas las muestras estudiadas con un grupo mayoritario de partículas o agregados de partículas de tamaño elevado, variable según la formulación de las emulsiones, y un grupo secundario de partículas en el intervalo de 1 a 10 μm . Las muestras con 10% de aceite mostraron, en general, menor desplazamiento del pico mayoritario hacia tamaños grandes en comparación a las muestras con 15% de aceite.

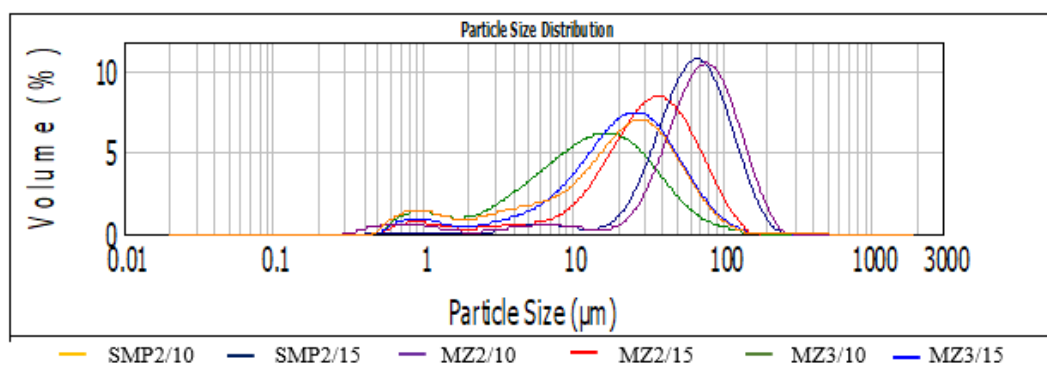


Figura 2. Distribución de tamaño de partícula de las emulsiones líquidas recién preparadas

En cuanto a los valores de los diámetros $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ (Tabla 2), se observó que en todas las muestras se obtuvieron valores elevados, en consonancia con las curvas de distribución, existiendo resultados similares de $D_{3,2}$ entre muestras con 2% de SMP/MZ y 15% de aceite, no existiendo diferencias significativas entre ellas ($p < 0,05$) con un intervalo de 15 a 16 μm , no obstante, se observó menor tamaño de partícula del $D_{3,2}$ para las muestras con 10% de aceite (5 a 8 μm). Así mismo, para las muestras con 2% de SMP/MZ y 15% de aceite, se observó el $D_{4,3}$ con variaciones de tamaños de partícula grandes en comparación a los que poseen 10% de aceite, obteniendo la muestra MZ3/10 el menor valor de tamaño de partícula en relación con el $D_{3,2}$ (5,4 μm) y $D_{4,3}$ (31,4 μm) en comparación a las otras muestras. Estos resultados indican que el aumento en el tamaño de gota, a una mayor concentración aceite (15%) y menor concentración de MZ (2%), se debió probablemente a la coalescencia de las gotas, así como a la formación de agregados. En un estudio realizado por Taneja et al. (2013) en el que utilizaron un intervalo entre 0,5 a 5%

(p/p) de proteínas (WPI y NaCas) para encapsular 20% (p/p) de aceite de soja, obtuvieron resultados similares con relación al aumento de tamaño de partícula a medida que disminuía la concentración de proteína (0,5%, p/p). El aumento en los valores de $D_{4,3}$ se atribuye probablemente a un insuficiente contenido de MZ disponible para la adsorción en la interfase de las gotitas recién formadas y su baja capacidad emulgente, lo que conduce a la formación de agregados y finalmente la coalescencia, siendo ésta el resultado de la unión de dos o más gotas con el consiguiente aumento en el tamaño (Singh y Ye, 2009; Walstra, 2003).

Tabla 2. Valores (\pm SD) de $D_{4,3}$ y $D_{3,2}$ de las partículas de las emulsiones el mismo día de su producción (día 0).

Muestras	$D_{3,2}$ (μ m)	$D_{4,3}$ (μ m)
SMP2/10	$7,17^b \pm 0,50$	$32,13^a \pm 6,36$
SMP2/15	$15,10^d \pm 2,81$	$62,76^c \pm 10,41$
MZ2/10	$8,88^c \pm 0,39$	$43,74^b \pm 9,17$
MZ2/15	$16,27^d \pm 1,13$	$57,05^c \pm 5,60$
MZ3/10	$5,47^a \pm 0,15$	$31,43^a \pm 2,89$
MZ3/15	$9,39^c \pm 1,35$	$45,35^b \pm 7,55$

^{a-b-c-d} Para cada parámetro, diferentes letras en la misma columna indican que existen diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.1.2. Análisis de la morfología de las emulsiones líquidas

En las imágenes obtenidas por microscopía óptica (Figura 3) se observó la formación de gotitas de aceite dispersas en el medio acuoso, existiendo heterogeneidad en la distribución de tamaños de partícula, en consonancia con las medidas de tamaño de partícula obtenidas por difracción laser. En las imágenes se observa que las muestras con 15% de aceite y con 2 y 3% de SMP/MZ poseen mayor cantidad de agregados indicando heterogeneidad y aumento de tamaño de partícula ($>20\mu$ m). Estos resultados pueden ser atribuidos a la menor fracción de volumen de fase acuosa de estas emulsiones en comparación con las que contienen un 10% de aceite, lo que permite una mayor capacidad de interacción entre las gotas, favoreciendo su colisión y la formación de flóculos o gotas más grandes (coalescencia). En contraste, las emulsiones con 10% de aceite y 3% de MZ, poseen menor cantidad de agregados de partícula y una mayor homogeneidad en la distribución de tamaño de partícula, no obstante, la muestra con 10% de aceite y 2% de MZ posee una pequeña cantidad de agregados. Autores informaron resultados similares para las emulsiones “aceite-en-agua” formuladas con diferentes concentraciones de goma de

Alyssum homolocarpum (Koocheki et al., 2009) donde demuestran resultados que indican que al aumentar de proporción de material emulgente redujo considerablemente el tamaño de gotitas, favoreciendo así la homogeneidad de la dispersión.

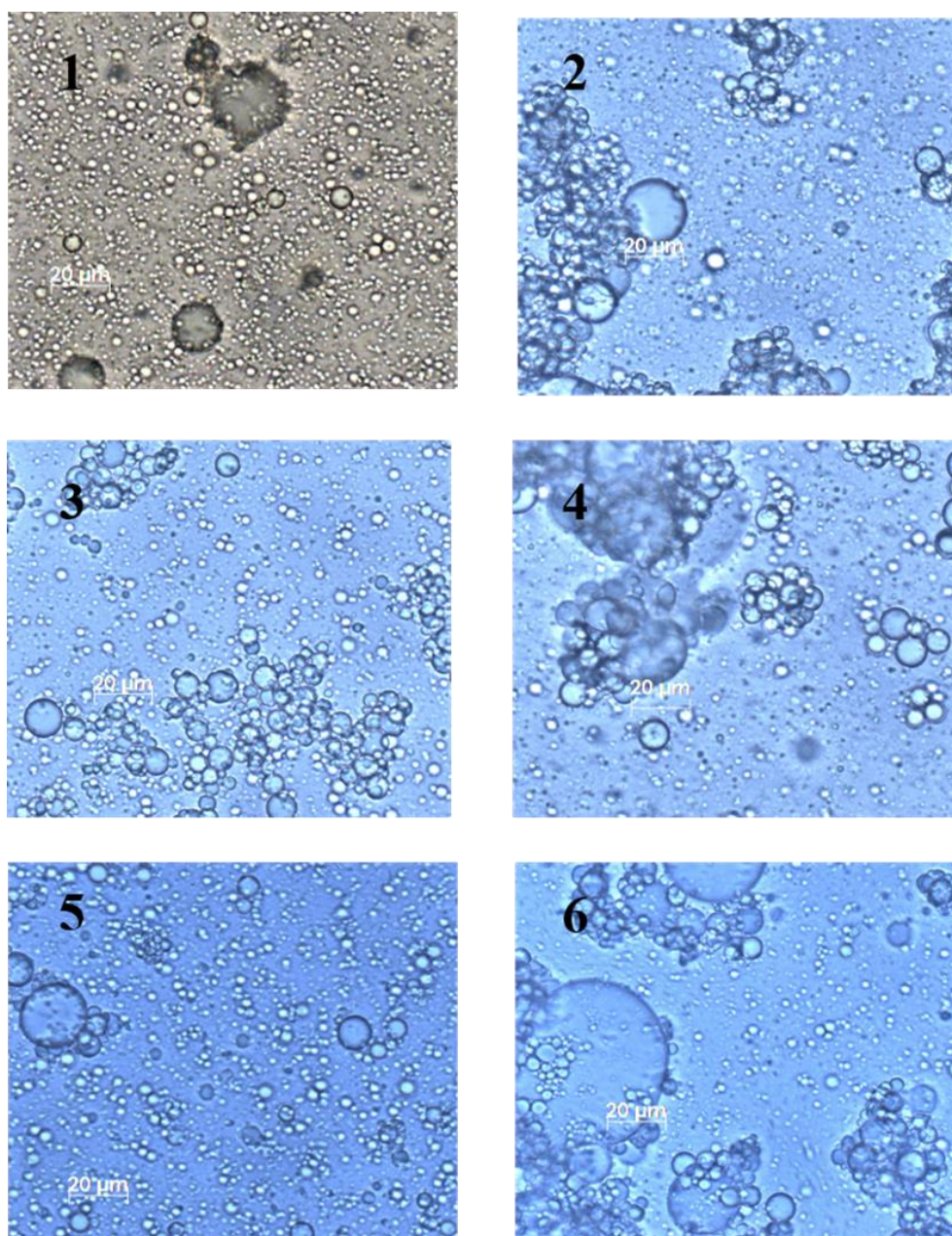


Figura 3. Microscopía electrónica de las emulsiones líquidas: 1. SMP2/10, 2. SMP2/15 3. MZ2/10 4. MZ2/15 5. MZ3/10 6. MZ3/15. Aumento 50x.

3.1.3. Evaluación de la estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de las emulsiones, determinada con el equipo Turbiscan, se evaluó mediante las curvas de evolución de la retrodispersión (BS) frente a la altura de vial donde se realizaron los barridos en los días d1, d6 y d15. En dichas curvas (Figura 4) los valores elevados de BS se corresponden con la mayor acumulación de gotas, por lo que su posición en el tubo permite interpretar los fenómenos de desestabilización en las emulsiones, tales como cremado y agregación. Por otra parte, los valores por debajo de la línea base (d0), representan menor acumulación de gotas como consecuencia de la migración de las de mayor tamaño hacia la superficie. Con el BS pueden observar que en el d1 se encontró formación de una capa cremado en todas las emulsiones, donde se observa claramente que los que contienen un 15% de aceite se manifiestan con mayor cremado que aquellas que contienen 10 %.

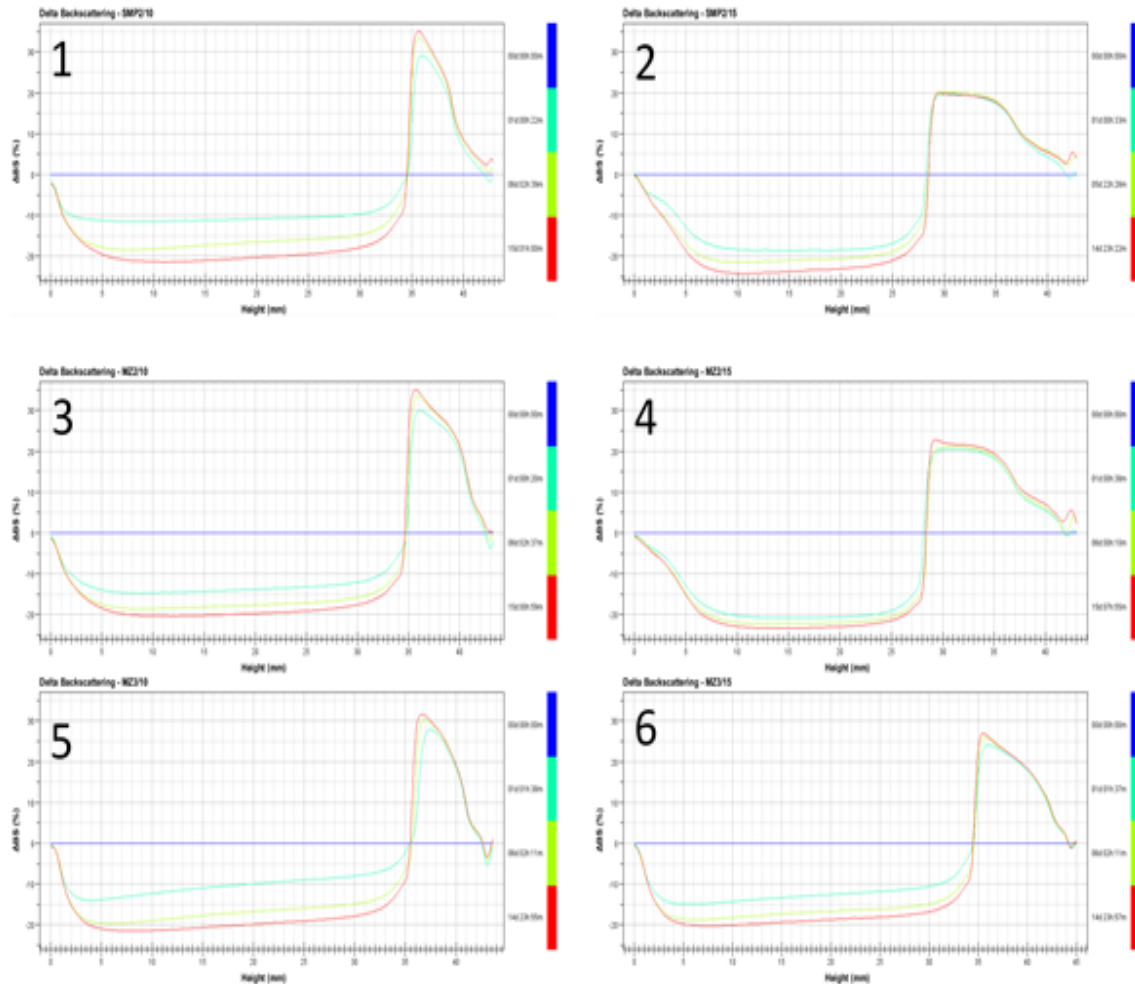


Figura 4. BS de las emulsiones a lo largo del tiempo d0 al d15. 1. SMP2/10, 2. SMP2/15 3. MZ2/10 4. MZ2/15 5. MZ3/10 6. MZ3/15.

El comportamiento del cremado puede ser explicado por la floculación y coalescencia de las gotas. Estas estructuras de mayor tamaño y menor densidad que la fase acuosa tienen la capacidad de migrar a la superficie a mayor velocidad que las gotas pequeñas por lo que ya el primer día se observa cremado, en este caso las emulsiones que contienen 15% de aceite se ven más afectadas probablemente porque la cantidad o capacidad de agente emulgente (SMP/MZ) no es suficiente. Estos emulgentes juegan un papel importante en la formación de la interfase entre la fase acuosa y la fase oleosa, protegiéndolas y creando fuerzas repulsivas entre las gotas (Bendjaballah et al., 2010)

El software del equipo permite calcular un índice de estabilidad (TSI) para facilitar la comparación de la estabilidad global entre muestra y su evolución en el tiempo. Los valores de TSI se muestran en la Figura 5 para las diferentes muestras comparándolas en los días d1, d6 y d15. Las mayores diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras se observaron en el d1, resultando con mayor velocidad de cremado las correspondientes a las que contienen 10% de aceite. Entre el d6 y d15 los valores de TSI para las muestras con 3% de MZ se redujeron sensiblemente dado que las partículas de mayor tamaño ya habían migrado a la superficie, donde se observa que no existen diferencias significativas entre ellas.

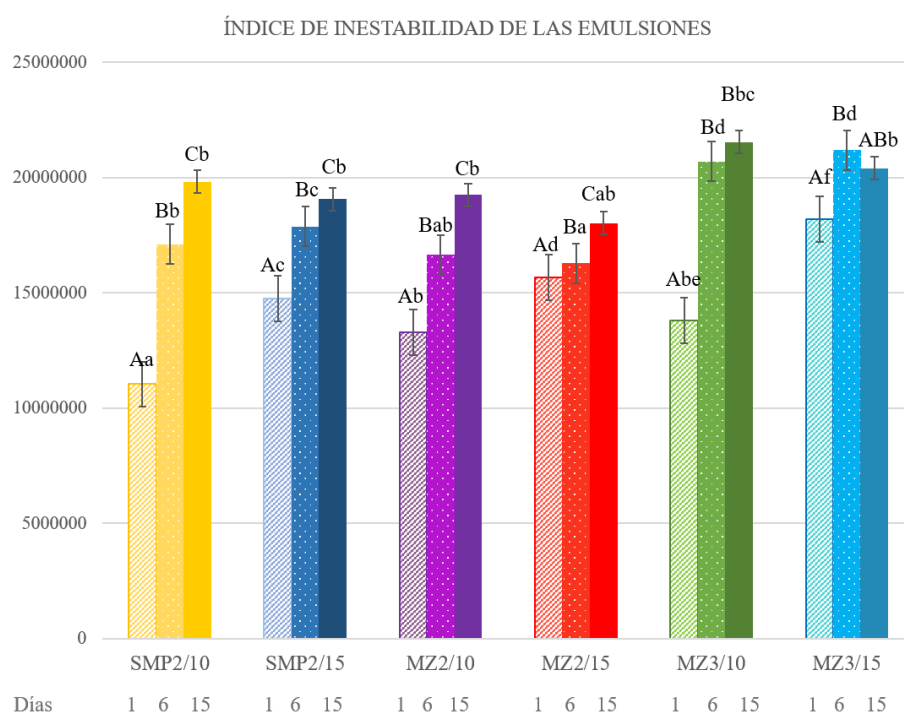


Figura 5. TSI de emulsiones líquidas. Las letras en minúscula (a-b-c-d-e-f) representan diferencias significativas entre muestras y las letras en mayúscula (A, B, C) representan las diferencias significativas entre días ($p < 0,05$).

3.1.4. Comportamiento reológico de las emulsiones

Los parámetros reológicos K y n se muestran en la Tabla 4 para todas las emulsiones. Dichos parámetros fueron obtenidos a partir del ajuste de las curvas de flujo al modelo reológico de Oswald de Waele. Todas las muestras presentaron un comportamiento no Newtoniano, de carácter ligeramente pseudoplástico con valores de n cercanos a 1 (Figura 6), aunque dicho carácter no fue muy marcado, ya que todas las muestras presentaron valores alrededor de 0,9.

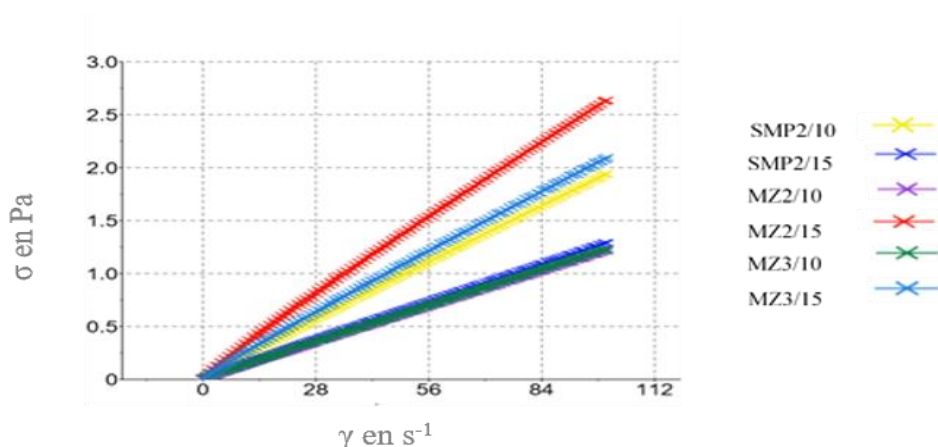


Figura 6. Curva de flujo para parámetros del comportamiento reológico de las emulsiones.

El índice de consistencia (K) está relacionado con la viscosidad aparente en fluidos no newtonianos. Para los valores de K (Tabla 4) se observaron diferencias significativas entre las muestras con 2% de SMP y 10 y 15% de aceite. No obstante, no se observó diferencias significativas entre las muestras con 10% de aceite y 2 y 3% de MZ y para el valor de K las mismas obtuvieron valores más bajos en comparación al resto de las emulsiones. Estos resultados pueden atribuirse a la presencia de agregados en la muestra que contienen 15% de aceite (ver Figura 3) los cuales hicieron que estos sistemas fueran más resistentes al flujo (Hayes y Kelly, 2003).

Tabla 4. Parámetros reológicos K y n (media \pm SD) de las emulsiones (día 1).

Muestras	K (mPa x s) ^a	n	r^2
SMP2/10	0,0255 ^b \pm 0,0061	0,938 ^b \pm 0,014	0,999 \pm 0,0001
SMP2/15	0,0189 ^a \pm 0,0038	0,950 ^b \pm 0,014	0,999 \pm 0,0003
MZ2/10	0,0157 ^a \pm 0,0022	0,980 ^c \pm 0,008	0,999 \pm 0,0002
MZ2/15	0,0246 ^b \pm 0,0050	0,946 ^b \pm 0,021	0,999 \pm 0,0001
MZ3/10	0,0168 ^a \pm 0,0013	0,971 ^c \pm 0,012	0,999 \pm 0,0005
MZ3/15	0,0354 ^c \pm 0,0022	0,933 ^{ab} \pm 0,015	0,999 \pm 0,0002

^{a-b-c} Para cada parámetro, las diferentes letras en cada columna indican que existen diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.5. Evaluación de características del secado por atomización

El principal objetivo del secado de las emulsiones es disminuir la humedad de la emulsión para facilitar su manipulación e incrementar la vida útil del producto. En el siguiente esquema (Figura 7) se observa el proceso por el cual se obtienen las emulsiones deshidratadas.

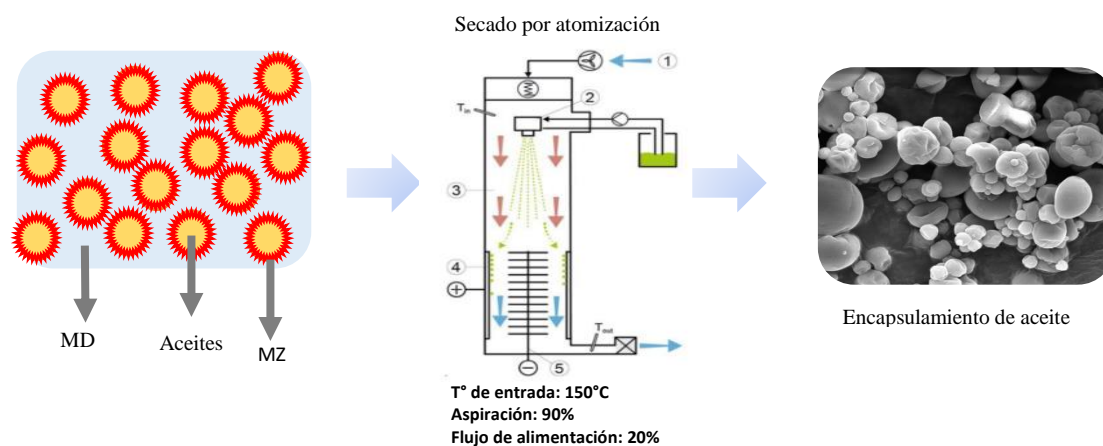


Figura 7. Esquema de síntesis para la preparación de emulsiones deshidratadas por el proceso de secado por atomización.

3.5.1. Caracterización de los componentes de la pared de encapsulamiento y su tamaño

La MZ y MD contenidos en la emulsión forman parte de la pared de encapsulamiento para los aceites en el proceso de secado. La determinación del diámetro medio de las partículas de la emulsion deshidratada se llevó a cabo por imágenes obtenidas a través del SEM y analizadas con el programa ImageJ el cuál determinó el diámetro medio de las partículas para cada muestra comprendido en un intervalo entre 1 a 6 μm (Tabla 5). Las emulsiones deshidratadas con menor tamaño medio de partícula (1-2,5 μm) son aquellas preparadas con 2% de SMP, así como también con la muestra con 3% de MZ y 10% (w/w) de aceite. No obstante, el mayor diámetro medio se le atribuye a la muestra MZ2/10, la cual presenta una distribución de tamaños de cápsulas más heterogénea.

Tabla 5. Diámetro medio (\pm SD) de tamaño de cápsulas deshidratadas ¹	
Muestras	Diámetro medio (μm)
SMP2/10	1,24 \pm 0,48
SMP2/15	2,12 \pm 0,56
MZ2/10	5,42 \pm 2,04
MZ2/15	3,79 \pm 0,98
MZ3/10	2,51 \pm 0,33
MZ3/15	2,63 \pm 0,29

¹Diámetro medio n= 50 cápsulas.

3.5.2. Morfología de las cápsulas de la emulsión deshidratada

Las morfología de las muestras obtenidas por el método de secado por atomización fueron examinadas por microscopia SEM (Figura 8), observándose cierta heterogeneidad en el tamaño de las partículas y aglomeración de cápsulas en muestras que contienen 2% de SMP/MZ. Un estudio realizado por Lehn et al. (2018) compara emulsiones que contienen suero puro con emulsiones que contienen mezcla de suero y permeado de suero para encapsular aceite de carpa y chía. En dicho estudio se menciona que las cápsulas formadas con la mezcla de suero y permeado de suero presentaron una forma irregular con más aglomeración, relacionando este resultado con su contenido de lactosa, el cual es un material muy higroscópico. Por otro parte, se observa homogeneidad en la muestra MZ3/10, con menos aglomeración de partículas, esto puede estar relacionado con la ausencia de aceite superficial en las partículas, indicando que un ratio de material encapsulante 2:1 con 30% de MD y 3% de MZ encapsulan con éxito 10% de aceite de la emulsión. El ratio de material encapsulante: aceite (2:1, p/p) utilizado en este estudio coincide con la investigación realizada por Martínez et al. (2015a) donde fueron evaluados el uso de maltodextrina en combinación con hidroxipropilmetilcelulosa como pared encapsulante para la microencapsulación del aceite de nuez y chía para secado por atomización en un ratio de 2:1. En el presente estudio, las imágenes del SEM revelaron que las microcápsulas pueden producirse individualmente o pueden formar agrupaciones o agregados. En este estudio las partículas exhiben un intervalo de tamaño que varía de 1 a 15 μm de diámetro. Todas las muestras presentaron una estructura superficial continua y homogénea con baja rugosidad y sin poros o fracturas aparentes. Se han publicado morfologías similares en la literatura para otros materiales secados por atomización, por ejemplo, Frascareli et al. (2012) menciona morfologías comparables para las microcápsulas de goma arábiga, donde afirman que esta morfología es una característica típica de los polvos secados por atomización. Así también, Ré (1998) menciona en su investigación que las depresiones superficiales están relacionadas con el colapso sufrido por las gotitas durante las etapas iniciales de secado.

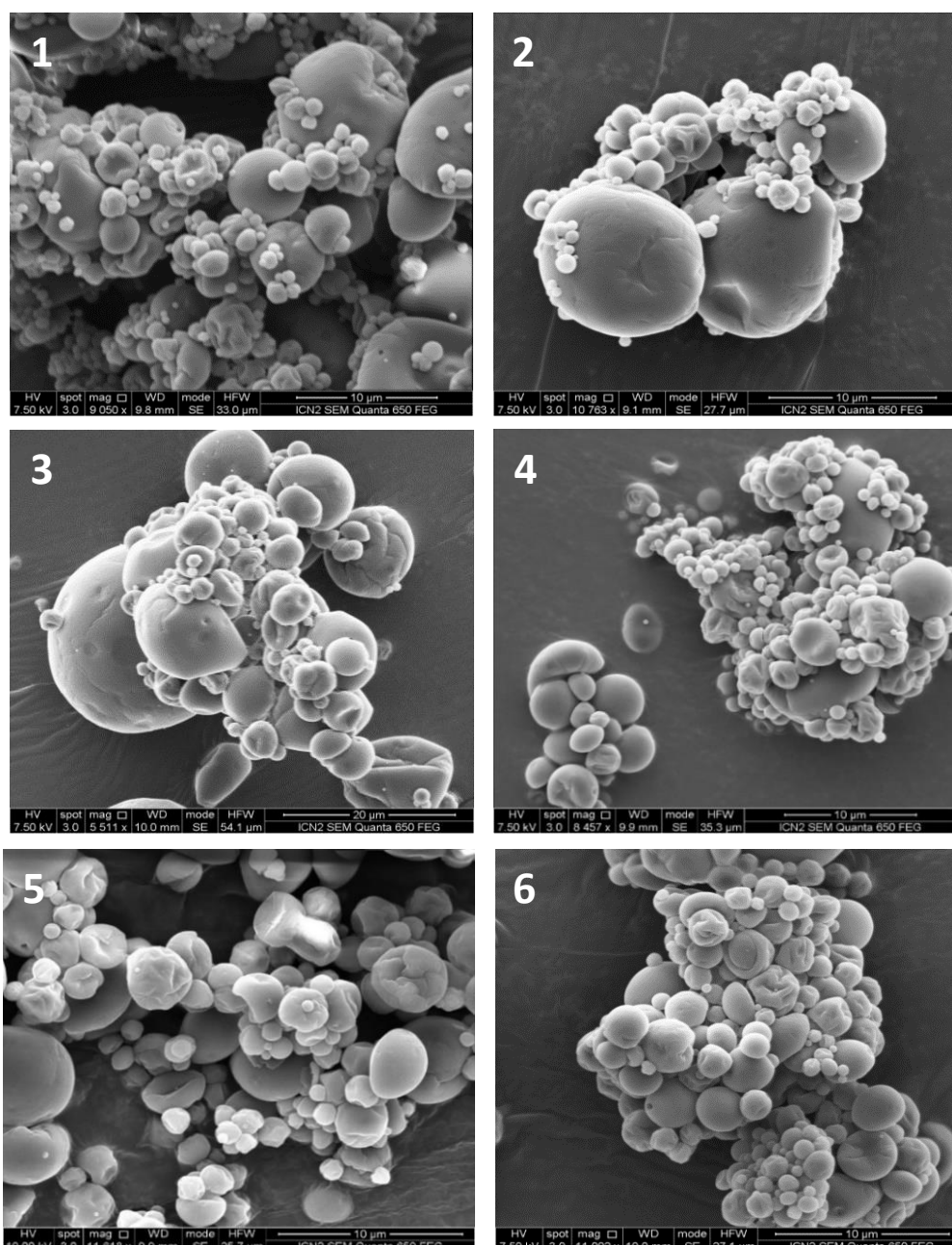


Figura 8. Morfología de las cápsulas de emulsiones deshidratadas a través del SEM. 1. SMP2/10, 2. SMP2/15 3. MZ2/10 4. MZ2/15 5. MZ3/10 6. MZ3/15.

3.5.3. Determinación de Humedad de las emulsiones deshidratadas

Este proceso se realizó a fin de evaluar el contenido de humedad presente en las emulsiones secadas por atomización con una fijación de 150 °C de T° de entrada y una variación de la T° de salida entre 70° y 80 °C, ésta última fijada por el equipo. Como se puede observar en la Tabla 6, existe un intervalo de contenido de humedad que varían entre 4 a 5 %. Siendo la muestra con 2% de MZ y 10% de aceite la que posee menor contenido de humedad (4 %). A nivel estadístico podemos observar que no existen diferencias significativas para las muestras que contienen 10% de aceite. Así también no existen diferencias

significativas con las muestras que contienen 15% de aceite con 2 y 3% de SMP y MZ, respectivamente. En un estudio realizado por Rodríguez (2015) donde realiza el secado por atomización en condiciones de trabajo con 180 °C de T° de entrada e intervalos de T° de salida entre 60 y 70 °C con emulsiones que se componen de SMP al 1% y mezcla de nata con materia grasa al 40% (w/w) se obtiene un contenido de humedad que varían de 7,3 a 12,1 % donde se observa que, a medida que aumenta la temperatura de secado, disminuye la humedad. Esto demuestra que las condiciones de trabajo del secado por atomización afectan directamente a la humedad del producto final.

Tabla 6. Análisis de contenido de humedad de la emulsiones deshidratadas.

Muestras	Contenido de Humedad (%)
SMP2/10	5,07 ^c ± 0,37
SMP2/15	4,92 ^{bc} ± 0,19
MZ2/10	4,82 ^c ± 0,12
MZ2/15	4,01 ^a ± 0,50
MZ3/10	5,23 ^c ± 0,15
MZ3/15	4,74 ^{bc} ± 0,15

^{a-b-c} Para cada parámetro, las diferentes letras en la columna indican que existen diferencias significativas (p<0,05).

3.6. Evaluación de la oxidación de los lípidos de las emulsiones líquidas y deshidratadas

La autooxidación lipídica es la principal razón del deterioro de las grasas y aceites insaturados (Matthäus, 2010) mediada por catalizadores tales como el oxígeno, la luz y metales. El resultado de las reacciones radicalarias es, en primera instancia, la formación de hidroperóxidos como compuestos primarios. Los hidroperóxidos, son moléculas inestables que pueden descomponerse en una amplia gama de productos secundarios volátiles y no volátiles, principalmente aldehídos, responsables de olores y sabores indeseables (McClements y Decker, 2000). El contenido de dichos compuestos es indicativo de la oxidación secundaria (Gunstone y Martini, 2010). La oxidación lipídica de las emulsiones líquidas y las deshidratadas, se evaluó mediante la determinación del índice de PV como del índice de TBARS, a fin de observar el efecto del proceso de secado por atomización en la oxidación de las emulsiones y fue realizada el mismo día después de la producción de las emulsiones líquidas y tras la deshidratación de las mismas. Las muestras deshidratadas fueron reconstituidas en agua destilada según el contenido total de los sólidos para cada muestra.

Los resultados obtenidos para el PV (Tabla7), comparando las emulsiones líquidas y las sólidas reconstituidas muestran que existe un ligero aumento de oxidación después del secado por atomización, coincidiendo con el estudio realizado por Anwar y Kunz (2011) donde demuestran que la microestructura de la partícula es una de las causas de oxidación, además del material encapsulante y los tratamientos térmicos sufridos por el secado por atomización. A través del análisis estadístico para la comparación de las emulsiones líquidas entre formulaciones se observó que existieron diferencias significativas entre todas las muestras ($p < 0,05$), resultando la muestra con 2% de MZ y 10% de aceite con el menor contenido de hidroperóxidos. Si comparamos las muestras reconstituidas a partir de la emulsión deshidratada podemos observar que no existieron diferencias significativas entre las muestras con SMP y MZ (2%) con 10% de aceite, asimismo no existieron diferencias significativas entre las muestras que contienen SMP y MZ (2%) con 15% de aceite. Se obtuvo el mayor nivel de absorbancia para la muestra con 3% de MZ y 15% de aceite. No obstante, se realizó un análisis estadístico para comparar las muestras líquidas ante las deshidratadas donde se observaron que las SMP2/10 no tuvieron diferencias significativas, sin embargo, las otras muestras compuestas de SMP y MZ si obtuvieron diferencias significativas entre sí, resultando estos últimos con mayor nivel de hidroperóxidos que el resto de las muestras. En este estudio se utilizó una temperatura de entrada de 150 °C para el secado por atomización, factor que pudo afectar a la formación de hidroperóxidos, coincidiendo con lo que se menciona en un estudio realizado por Tonon et. al. (2011), demostrando que las temperaturas muy altas favorecen el proceso de oxidación de lípidos. Así también, estos resultados concuerdan con el autor Martínez et al. (2015b) reportando un incremento de valores de PV para la encapsulación de aceite de chía con maltodextrina en combinación con hidroxipropilmetilcelulosa como material encapsulante después del secado por atomización. Este contenido de hidroperóxidos en las emulsiones deshidratadas podría esperarse al comienzo del almacenamiento debido a la mayor tasa de exposición del aceite al oxígeno, luz y temperaturas más altas durante el proceso de secado (homogeneización, tratamiento térmico, flujo de alimentación y secado por atomización) (Baik et al., 2004, Velasco et al., 2000).

Tabla 7. Oxidación primaria de los lípidos (PV) expresados en absorbancia 510nm		
Muestras	Emulsión Líquida	Emulsión deshidratada
SMP2/10	0,6213 ^{Ac} ± 0,0058	0,6691 ^{Aa} ± 0,0835
SMP2/15	0,7083 ^{Ad} ± 0,0490	0,8046 ^{Bb} ± 0,0977
MZ2/10	0,3803 ^{Aa} ± 0,0608	0,6792 ^{Ba} ± 0,0630
MZ2/15	0,9138 ^{Ae} ± 0,0141	0,8217 ^{Bb} ± 0,0918
MZ3/10	0,5321 ^{Ab} ± 0,0109	0,6367 ^{Ba} ± 0,0064
MZ3/15	0,9065 ^{Ae} ± 0,0334	1,0842 ^{Bc} ± 0,1356
Las letras en minúscula ^(a-b-c-d-e-f) representan diferencias significativas en la misma columna y las letras en mayúscula ^(A, B, C) representan las diferencias significativas entre columnas (p<0,05).		

Se observó la oxidación secundaria de los lípidos para el primer día de almacenamiento (Tabla 8), las cuales demuestran que para las emulsiones líquidas existieron diferencias significativas entre muestras (p<0,05). No obstante, no existieron diferencias significativas entre las muestras que contienen 3% de MZ y 10 y 15% de aceite, respectivamente. El mismo comportamiento se observa para las emulsiones deshidratadas. A nivel comparativo se pueden observar que existe un ligero aumento de oxidación entre las emulsiones líquidas y deshidratadas, siendo éstas estadísticamente diferente, no así con la muestra SMP2/10 donde se observan que no existen diferencias significativas las cuales coinciden con el autor Serfert et al. (2009) donde menciona que inmediatamente después del secado por atomización, no incrementa el índice de oxidación secundaria en ningunas de las muestras tratadas, probablemente porque no ha pasado tiempo suficiente para la formación de compuestos secundarios.

Tabla 8 . Oxidación secundaria de los lípidos (TBARS) a 532nm		
Muestras	Emulsión Líquida	Emulsión deshidratada
SMP2/10	0,4711 ^{Aa} ± 0,0190	0,4929 ^{Ae} ± 0,0039
SMP2/15	0,3703 ^{Ab} ± 0,0119	0,3892 ^{Bc} ± 0,0083
MZ2/10	0,4374 ^{Ac} ± 0,0139	0,4424 ^{Bd} ± 0,0138
MZ2/15	0,3012 ^{Ad} ± 0,0187	0,3042 ^{Ab} ± 0,0189
MZ3/10	0,2251 ^{Ae} ± 0,0229	0,2438 ^{Ba} ± 0,0054
MZ3/15	0,2414 ^{Ae} ± 0,0542	0,2566 ^{Ba} ± 0,0375
Las letras en minúscula ^(a-b-c-d-e-f) representan diferencias significativas entre muestras y las letras en mayúscula ^(A, B, C) representan las diferencias significativas entre días (p<0,05).		

3.7. Evaluación general de la redispersión de las emulsiones deshidratadas

A partir de las emulsiones deshidratadas se observó el comportamiento a la redispersión en agua utilizando el 5% (p/p) de polvo en agua. En la Figura 9 se puede observar la formación de una ligera capa de cremado en la superficie del recipiente para todas las muestras después de su hidratación al cabo de 24 h. Asimismo, se observó la presencia de pequeñas zonas de grasa libre indicando que la eficiencia de la encapsulación fue deficiente.

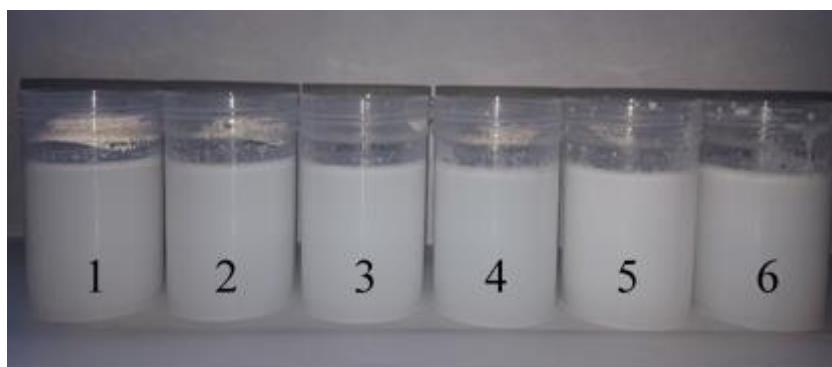


Figura 9. Redispersión al 5% de las emulsiones “aceite-en-agua”. Observación visual de cremado luego de 24 h de hidratación. **1.** SMP2/10, **2.** SMP2/15 **3.** MZ2/10 **4.** MZ2/15 **5.** MZ3/10 **6.** MZ3/15.

4. CONCLUSIONES

El análisis de las formulaciones utilizadas en este estudio para la elaboración de emulsiones “aceite-en-agua” con mazada rica en membrana del glóbulo graso como emulgente y aceites vegetales ricos en ácidos grasos poliinsaturados, demostró que son adecuados y proporcionan información útil para evaluar su comportamiento, tanto para las emulsiones líquidas como para las deshidratadas. El análisis de la estabilidad de las emulsiones antes de su secado mostró un comportamiento inestable para todas las emulsiones, observándose la presencia del fenómeno de desestabilización de cremado el primer día después de su elaboración, no obstante, se observó una mejor estabilidad en las emulsiones con menor contenido en aceite. Teniendo en cuenta los análisis reológicos, todas las emulsiones líquidas presentaron un comportamiento reológico ligeramente pseudoplástico con valores de n cercanos a 1, afectando a la viscosidad la variación de contenido de aceite en el caso de la muestra tratada con mazada.

Las imágenes obtenidas de las emulsiones deshidratadas analizadas por microscopia SEM demostraron secarse correctamente, no observándose la presencia de aceite fuera de las partículas. Asimismo, éstas mostraron estar formadas por partículas esféricas de superficies lisas y tamaños heterogéneos, con un diámetro medio similar para todas las emulsiones deshidratadas.

El índice de peróxidos se vio afectado por el contenido de aceite tanto para emulsiones líquidas y como para las deshidratadas. Las emulsiones con un 10% de aceite presentaron niveles de hidroperóxidos menores en comparación con las emulsiones formuladas con el 15% (p/p) tras el primer día de su elaboración y, probablemente no transcurrió tiempo suficiente para que se desarrollara un incremento sustancial de oxidación secundaria, tanto para las muestras líquidas como para las deshidratadas. Tras el secado de las emulsiones, se observó que el proceso de deshidratación afectó a la oxidación de los componentes de las emulsiones produciéndose un ligero incremento de la oxidación en las muestras sólidas. Para las emulsiones deshidratadas la inclusión de la mazada en mayor concentración (3%) demostró tener mayor efecto en evitar la oxidación frente a los que contienen menor contenido de mazada.

Ante esto, se puede concluir que con los parámetros de trabajo empleados en este estudio (concentraciones de ingredientes activos, presiones de homogeneización y condiciones de secado) no se ha podido llegar a definir una formulación óptima que permita obtener

emulsiones líquidas estables y emulsiones deshidratadas de tamaño homogéneo. De cara a futuro, se deberá estudiar los posibles factores que afectan a la estabilidad de las emulsiones buscando la relación óptima de mazada: aceite que posibilite obtener emulsiones más estables y que sean aceptables para proceso de secado por atomización, teniendo en cuenta las condiciones de trabajo que afectan a la morfología de las cápsulas de las emulsiones deshidratadas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C. (Vol. 15th, pp. 136–138).
- Anwar, S.H., Kunz, B. (2011). The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: comparison of spray granulation, spray drying and freeze drying. *Journal of Food Engineering* 105 (2), 367–378.
- Astaire, J. C., Ward, R., German, J. B., & Jiménez-Flores, R. (2003). Concentration of Polar MFGM Lipids from Buttermilk by Microfiltration and Supercritical Fluid Extraction. *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2297–2307.
- Augustin, M.A., Sanguansri, L., Bode, O. (2006). Maillard reaction products as encapsulants for fish oil powders. *Journal of Food Science* 71 (2), 25–32.
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.), from five northeastern locations in northwestern Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72:1079-1081.
- Bae, E.K., Lee, S.J., (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation* 25 (8), 549–560
- Baik, M.-Y., Suhendro, E. L., Nawar, W. W., McClements, D. J., Decker, E. A., & Chinachoti, P. (2004). Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 355-360.
- Bendjaballah, M., Canselier, J.P., Oumeddour, R. (2010). Optimization of oil in water emulsion stability: experimental design, multiple light scattering, and acoustic attenuation spectroscopy. *J. Dispersion Sci. Technol.* 31 (9), 1260-1272.
- Codina-Torrella, I., Guamis, B., Ferragut, V., & Trujillo, A. J. (2017). Potential application of ultra-high-pressure homogenization in the physicochemical stabilization of tiger nuts' milk beverage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 40, 42–51.
- Cortés-Muñoz, M., Chevalier-Lucia, D., Dumay, E. (2009). Characteristics of submicron emulsions prepared by ultra-high-pressure homogenization: Effect of chilled or frozen storage. *Food hydrocolloids*, 23: 640-654.
- De Barros, R., Vilela, S. y Alvarenga, D. (2013). Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 33, 171-178.
- Desai, K., & Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361-1294.

- FAO/OMS. Fats and Oils in Human Nutrition. (1994). Report of a Joint Expert Consultation. FAO Food and Nutrition, N° 57.
- Fong, B. Y., Norris, C. S., and MacGibbon, A. K. H. (2007) Protein and lipid composition of bovine milk fat globule membrane. *Int. Dairy J.* 17, 275-288.
- Frascareli E.C., Silva V.M., Tonon R.V., Hubinger M.D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying, *Food Bioprod. Process.* 90 413–424.
- Gao, Z.-M., Zhu, L.-P., Yang, X.-Q., He, X.-T., Wang, J.-M., Guo, J., et al. (2014). Soy lipophilic protein nanoparticles as a novel delivery vehicle for conjugated linoleic acid. *Food & Function*, 5(6): 1286–1293.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International* 40 (9), 1107–1121.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 330-347.
- Guiotto, E. N., Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Tomas, M. C. (2014). Effect of storage conditions and antioxidants on the oxidative stability of sunflower-chia oil blends. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 91,767–776.
- Gunstone, F. D., Martini, S., Skibsted, L., Risbo, J., Andersen, M. (2010). Chemical and physical deterioration of bulk oils and shortenings, spreads and frying oils. *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*, 413-438.
- Gundstone, F.D., Padley, F.B. (1997). *Lipid technologies and applications*. CRC Press, USA, New York (Marcel Dekker Inc).
- Gurnida DA, Rowan AM, Idjradinata P, Muchtadi D, Sekarwana N. (2012) Association of complex lipids containing gangliosides with cognitive development of 6-month-old infants. *Early Hum Dev*; 88:595-601.
- Hayes, M. G., & Kelly, A. L. (2003). High pressure homogenization of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *Journal of Dairy Research*, 70,297–305
- Hernell, O., Timby, N., Domellöf, M., & Lönnerdal, B. (2016). Clinical Benefits of Milk Fat Globule Membranes for Infants and Children. *The Journal of Pediatrics*, 173, S60–S65. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.02.077>
- Hogan, S.A., O’Riordan, E.D., O’Sullivan, M. (2003). Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. *Journal of Microencapsulation* 20 (5), 675–688

- Hu, M., Julian McClements, D. & Decker, E.A. (2004). Impact of chelators on the oxidative stability of whey protein isolate-stabilized oil-in-water emulsions containing ω -3 fatty acids. *Food Chemistry*, 88(1): 57–62.
- Jafari, S. M., He, Y. H., & Bhandari, B. (2007). Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International*, 40, 862-873.
- Kanno C. (1990) Secretory membranes of the lactating mammary gland. *Protoplasm*; 159:184-208.
- Koocheki, A., Kadkhodaei, R., Mortazavi, S., Shahidi, F., & Taherian, A. (2009). Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23, 2416-2424.
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V., Bibette, J. (2007). *Emulsion Science Basic principles*, second ed. Springer, New York.
- Lehn, D. N., Esquerdo, V. M., Dahlem Júnior, M. A., Dall’Agnol, W., dos Santos, A. C. F., de Souza, C. F. V., & de Almeida Pinto, L. A. (2018). Microencapsulation of different oils rich in unsaturated fatty acids using dairy industry waste. *Journal of Cleaner Production*, 196, 665–673.
- Matthäus B. (2010). *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. Management in Different Industry Sectors* Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Pages 183-238
- Martínez, M. L., Curti, M. I., Roccia, P., Llabot, J. M., Penci, M. C., Bodoira, R. M., & Ribotta, P. D. (2015ab). Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*, 270(Part A), 271–277
- McClements, D., Decker, E. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270-1282.
- O’ Dwyer, S.P., O’ Beirne, D., Eidhin, D.N., O’ Kennedy, B.T. (2013). Effects of sodium caseinate concentration and storage conditions on the oxidative stability of oil- in-water emulsions. *Food Chem.* 138 (2–3), 1145–1152.
- Porras-Loaiza, P., Jiménez-Munguía, M. T., Sosa-Morales, M. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2014). Physical properties, chemical characterization and fatty acid composition of Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 49,571–577.

- Ré M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying, *Dry. Technol.* 16 1195–1236.
- Reineccius, G. A. (2004). The spray drying of food flavors. *Drying Technology*, 22(6), 1289–1324.
- Rodríguez, E. G. (2015). Elaboración de bases lácteas en polvo mediante secado por atomización para fabricación de chocolate. Retrieved from <http://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/32386>
- Robins, M. M., & Wilde, P. J. (2003). Colloids and emulsions. *Science*, 1517–1517.
- Sánchez-Muniz, F. J., Bastida, S., Benedí, J. (2015). *Encyclopedia of Food and Health*. Volume 1: 217-226.
- Serfert Y., Drusch S., Schwarz K. (2009). Chemical stabilization of oils rich in long-chain polyunsaturated fatty acids during homogenization, microencapsulation and storage, *Food Chem.* 113,1106–1112.
- Singh, H., & Ye, A. (2009). Interactions and functionality of milk proteins in food emulsions. In A. Thompson, M. Boland, & H. Singh (Eds.), *Milk proteins: From expression to foods* (pp. 321e345). London, England: Elsevier Inc.
- Sørensen, G., & Jørgensen, S. S. (1996). A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 202(3): 205–210.
- Snow, D. R., Ward, R. E., Olsen, A., Jimenez-Flores, R., & Hintze, K. J. (2011). Membrane-rich milk fat diet provides protection against gastrointestinal leakiness in mice treated with lipopolysaccharide. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2201–2212. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3886>
- Taneja, A., Ye, A., Jones, J. R., Archer, R., & Singh, H. (2013). Behavior of oil droplets during spray drying of milk-protein-stabilized oil-in-water emulsions. *International Dairy Journal*, 28(1), 15–23.
- Timby N, Domellof E, Hernell O, Leonnerdal B, Domellof M. (2014). Neurodevelopment, nutrition, and growth until 12 months of age in infants fed a low-energy, low-protein formula supplemented with bovine milk fat globule membranes: a randomized controlled trial;99:860-8.
- Tonon, R., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, 44(1), 282–289.

- Walstra, P. (2003). Changes in dispersity. In P. Walstra (Ed.), *Physical chemistry of foods* (pp. 476-547). Basel, Switzerland: Marcel Dekker.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology Handbook* (Second Ed). Boca Raton, FL, USA: Taylor and Francis Group.
- Wang, X., Hirno, S., Millen, R., and Wadstrom, T. (2001) Inhibition of *Helicobacter pylori* infection by bovine milk glycoconjugates in a BALB/cA mouse model. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 20, 275-281.
- Ye, A. Q. (2011). Functional properties of milk protein concentrates: emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions. *International Dairy Journal*, 21, 14-20
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z. y Mousavi, S. M. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica granatum L.*). *Journal of Food Science and Technology*, 48(6), 677-684.